

Expression profiling of ET02-regulated genes in erythroid cells

著者	YAROB WAEL ALQADI
号	82
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3063号
URL	http://hdl.handle.net/10097/62207

氏 名	ヤロブ ワエル アルカディ Yarob Wael Alqadi
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	2012 年 9 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	Expression profiling of ETO2-regulated genes in erythroid cells (赤芽球における ETO2 制御下遺伝子群の解明)
論文審査委員	主査 教授 張替 秀郎 教授 清水 律子 教授 菅原 明

論 文 内 容 要 旨

Transcriptional corepressor ETO2 is known to be a component of protein complex containing master regulators of hematopoiesis including GATA-1, Scl/TAL1, LMO2 and LDB1. However, the influence of ETO2 on GATA factor function in erythroid cells has not been clarified yet. Thus, I conducted gene expression profiling by ETO2 overexpression in human K562 erythroid cells. Overexpression of ETO2 in hemin-treated K562 cells resulted in decreased ratio of benzidine-staining positive cells, suggesting that ETO2 retards hemin-mediated differentiation of K562 cells. Microarray analysis demonstrated that 667 and 598 genes were upregulated and downregulated, respectively, in the ETO2-overexpressed cells (> 2 fold). The ETO2-repressed gene ensemble included genes encoding prototypical erythroid proteins, e.g. heme biosynthetic enzymes and red cell cytoskeletal proteins. Merging the microarray results with a recent ChIP-seq profile (n= 5,749), and demonstrated that 23.1% of ETO2-repressed genes contained significant GATA-1 in their loci. Gene Ontology (GO) analysis among ETO2-repressed genes revealed significant enrichment of genes related to hemoglobin complex. To test if ETO2-mediated repression of globin genes is also observed in primary erythroblasts, I conducted shRNA-mediated knockdown of ETO2 in cord blood cell-derived primary erythroblasts, and demonstrated that ETO2 knockdown significantly activated *HBB* and *HBA* expression. In conclusion, ETO2 repressed GATA-1 target genes critical for erythroid differentiation as well as those not known to be regulated by GATA-1. Furthermore, mRNA expression profiles reported in this study would form a comprehensive transcriptome database to reveal the role of ETO2 in erythroid cells.

審査結果の要旨

博士論文題目 Expression profiling of ETO2-regulated genes in erythroid cells
(赤芽球における ETO2 制御下遺伝子群の解明)

所属専攻・分野名 医科学専攻 血液・免疫病学 分野
学籍番号 氏名 YAROB WAEL ALQADI

細胞分化における遺伝子発現の調節には細胞系列特異的な転写因子が関与していると考えられており、このうち赤血球の分化においては、GATA-1 転写因子が重要な役割を果たしている。GATA-1 は、Scl/TAL1、LMO2、LDB1、ETO2 などの転写因子もしくは共役因子と複合体を形成していることが明らかとなっており、これらの因子が GATA-1 による遺伝子発現制御に影響を及ぼしていることが予想される。本研究は、複合体の構成因子のうち転写抑制因子として知られている ETO2 に着目し、赤芽球分化における役割を明らかにすることを目的としている。

まずヒト赤芽球系細胞株 (K562 細胞) を用いて赤芽球分化における ETO2 の役割を検討した。K562 細胞に ETO2 を強制発現したところ、ヘモグロビン陽性細胞の有意な減少を認めた。次に、ETO2 強制発現にて発現低下を示した遺伝子群について Gene Ontology 解析を行った結果、"oxygen transport" (グロビン遺伝子群に相当) に関与する遺伝子群が、統計的に有意な機能カテゴリーとして唯一抽出された。さらに、クロマチン免疫沈降法による検討から、ETO2 がグロビン遺伝子群の制御領域(LCR: locus control region)に結合したことより、K562 細胞において ETO2 が直接その発現抑制に寄与する可能性が示唆された。

上記の結果を、臍帯血由来 CD34 陽性細胞からの ex vivo 赤芽球分化系において検証した。ETO2 をノックダウンした CD34 陽性細胞を赤芽球に分化させると、コントロールと比較してグロビン遺伝子(*HBB*, *HBA*)の発現および細胞内ヘム濃度の有意な上昇を示した。逆に ETO2 強制発現赤芽球においてはグロビン遺伝子(*HBB*, *HBA*)の発現は有意な低下を示した。以上の結果より、ETO2 はヒト赤芽球分化における負の制御因子である可能性が示唆された。

本研究を通じて、ETO2 はグロビン遺伝子をはじめとした赤血球特異的遺伝子群の制御に重要な役割を果たすことを明らかになった。この知見は、分子レベルでの赤血球分化機構の解明に寄与しうるものである。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。